



⑮ BUNDESREPUB
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Pat ntschrift
⑩ DE 195 02 167 C 2

⑤① Int. Cl. 8:
C 12 P 21/06

②① Aktenzeichen: 195 02 167.3-42
②② Anmeldetag: 25. 1. 95
②③ Offenlegungstag: 1. 8. 98
②④ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 8. 2. 97

DE 195 02 167 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

⑦③ Patentinhaber:
Henkel KGaA, 40589 Düsseldorf, DE

⑦② Erfinder:
Heilemann, Andrea, Dr., 89079 Ulm, DE; Sander,
Andreas, Dr., 89257 Illertissen, DE

⑤⑤ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht gezogene Druckschriften:
JP 05-221844 (Abstr.);
JP 05-78298 (Abstr.);
JP 05-922 (Abstr.);

⑤④ Verfahren zur Herstellung von Reisproteinhydrolysaten
⑤⑦ Verfahren zur Herstellung von Reisproteinhydrolysaten,
bei dem man reisproteinhaltige Ausgangsstoffe in Gegen-
wart von Proteinase bei einem pH-Wert im Bereich von 8
bis 10 hydrolysiert.

DE 195 02 167 C 2

Bezeichnung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Reisproteinhydrolysaten, bei dem man die reisproteinhaltigen Ausgangsstoffe unter alkalischen Bedingungen mit einer Proteinase behandelt sowie die Verwendung der Hydrolysate zur Herstellung hellfarbiger, lagerstabiler Derivate.

Abbauprodukte von Polypeptiden, sogenannte Proteinhydrolysate, sind seit langem bekannt. Obschon sie wegen des Fehlens einer lipophilen Gruppe keine Detergenseigenschaften besitzen, werden sie wegen ihrer dispergierenden Eigenschaften und ihrer Fähigkeit, die dermatologische Verträglichkeit anionischer Tenside durch Wechselwirkung mit den Eiweißmolekülen der Haut günstig zu beeinflussen, in einer Vielzahl von oberflächenaktiven Mitteln eingesetzt. Übersichtsartikel hierzu finden sich beispielsweise von A.Domsch et al. in *Ärztl. Kosmetol.* 13, 524 (1983), G.Schuster et al. in *Cosmet. Toil.* 99, 12 (1984) und H.Lindner in *Parfüm.Kosmet.* 66, 85 (1985).

Üblicherweise werden Proteinhydrolysate auf Basis von tierischem Kollagen gewonnen. In den letzten Jahren hat sich jedoch ein Trend nach pflanzlichen Produkten, beispielsweise auf Basis von Weizengluten oder Reisprotein und insbesondere Sojaprotein durchgesetzt.

Aus der französischen Offenlegungsschrift FR 2542013 (ABC) ist beispielsweise die Hydrolyse pflanzlicher Proteine mittels besonderer Milchsäurebakterien in Gegenwart von Kohlenwasserstoffen bekannt. In der US 4757007 (Nisshin) wird die partielle Hydrolyse von Sojaproteinen mit Proteasen in Fraktionen unterschiedlicher Löslichkeit in Trichloressigsäure, Trennung der Fraktionen bei einem pH-Wert von 7, Abtrennung nichthydrolysierter Anteile und Reinigung der Produkte durch Ultrafiltration beschrieben. Gegenstand der europäischen Patentanmeldung EP-A 0187048 (Nova) ist der enzymatische Abbau von Sojaproteinen durch Behandlung mit speziellen Proteasen. Aus der EP-A 0298419 (Katayama) ist die Herstellung von Proteinhydrolysaten mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von 500 bis 90.000 durch schrittweisen alkalischen, sauren und/oder enzymatischen Abbau von Weizen- oder Sojaproteinen bekannt. In der EP-A 0363771 (Nestle) wird schließlich über ein Verfahren zur Herstellung von Proteinhydrolysaten berichtet, bei dem man pflanzliche Proteine mit Salzsäure hydrolysiert, nichthydrolysierte Bestandteile abtrennt, zur Zerstörung unerwünschter chlorierter Verbindungen alkalisch stellt und die resultierenden Produkte anschließend ansäuert.

Die JP 05/221 844 offenbart ein Verfahren zur Herstellung von Reisproteinhydrolysaten unter Einsatz von Actinasen und Proteasen.

Ein weiteres Verfahren wird in der JP 05/76 298 offenbart, die Umsetzung kann durch Stärkehydrolyse, alkoholische Fermentation oder mittels proteolytischer Enzyme erfolgen.

Den Verfahren des Stands der Technik ist jedoch gemein, daß sie angewendet auf den pflanzlichen Rohstoff Reis dunkel gefärbte Produkte liefern, die nicht ausreichend lagerstabil sind. So ist zum Beispiel in der Schrift JP 05/922 ein Verfahren zur Herstellung von Reisproteinhydrolysaten offenbart, bei dem anschließend das Produkt noch entfärbt werden muß.

Die Aufgabe der Erfindung hat somit darin bestanden, hellfarbige, lagerstabile Reisproteinhydrolysate zu

entwickeln.

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von Reisproteinhydrolysaten, bei dem man reisproteinhaltige Ausgangsstoffe in Gegenwart von Proteinase bei einem pH-Wert im Bereich von 8 bis 10 hydrolysiert.

Vorteilhafte Ausgestaltungen des Verfahrens sind in den Unteransprüchen angegeben.

Nach umfangreichen Untersuchungen der Anmelderin hat sich gezeigt, daß die unzureichende Lagerstabilität auf eine unvorteilhafte Molekulargewichtsverteilung der Reisproteinhydrolysate zurückzuführen ist. Demzufolge mußte die Lösung der gestellten Aufgabe die Erzeugung einer geeigneten Molekulargewichtsverteilung ermöglichen. Überraschenderweise wurde gefunden, daß ein enzymatischer Abbau unter besonderer Auswahl der eingesetzten Enzyme und pH-Wert-Bedingungen zu unerwartet hellfarbigen nicht eintrübenden Hydrolysaten führt.

Proteinasen zählen zur Gruppe der Proteasen, also Enzymen, welche die hydrolytische Spaltung der Peptidbindung katalysieren und daher systematisch gesehen zu den Hydrolasen gehören. Proteinase, die auch als Endoproteasen oder Endopeptidasen bezeichnet werden, spalten Peptidbindungen im Inneren des Proteins. Sie sind von den (Exo-)Peptidasen zu unterscheiden, die einen Abbau an der terminalen Peptidbindung der endständigen Amino- oder Carboxylgruppe bewirken. Typische Beispiele für im Sinne des erfindungsgemäßen Verfahrens geeignete Proteinase sind die im Handel erhältlichen Serin-Proteinase (EC 3.4.21), Cystein- bzw. Thiol-Proteinase (EC 3.4.22), saure Proteinase vom Typ der Aspartat- bzw. Carboxyproteinase (EC 3.4.23) sowie untergeordnet auch Metall-Proteinase (3.4.24).

Beispiele für geeignete Serin-Proteinase sind Chymotrypsin, Elastase, Kallikrein, Plasmin, Trypsin, Thrombin und Subtilisin.

Die Menge der eingesetzten Proteinase ist an sich nicht kritisch, sollte jedoch im Bereich von 0,1 bis 5, vorzugsweise 0,5 bis 2 Gew.-% — bezogen auf die Ausgangsstoffe — liegen.

Zur Entfernung von Spuren an unerwünschten Farbverursachern hat es sich als vorteilhaft erwiesen, die proteinhaltigen Ausgangsstoffe zusammen mit geeigneten Adsorbentien in die Hydrolyse einzusetzen. Als Adsorbentien kommen beispielsweise Kieselgele, Aluminiumoxide und vorzugsweise Aktivkohlen in Betracht, die in Mengen von 0,1 bis 15, vorzugsweise 1 bis 5 Gew.-% — bezogen auf den Stickstoffgehalt der proteinhaltigen Ausgangsstoffe — eingesetzt werden können.

Zur Durchführung der enzymatischen Hydrolyse wird eine wäßrige Suspension des reisproteinhaltigen Ausgangsstoffs gegebenenfalls zusammen mit den Adsorbentien wie oben beschrieben unter alkalischen Bedingungen, vorzugsweise bei einem pH-Wert im Bereich von 8 bis 9, über einen Zeitraum von 1 bis 24 h im Temperaturoptimum der eingesetzten Proteinase, beispielsweise bei 40 bis 70°C abgebaut.

Unter reisproteinhaltigen Ausgangsstoffen sind Reismehl und Proteinisolate zu verstehen, die beispielsweise durch Extraktion von Reismehl nach bekannten Verfahren des Stands der Technik erhalten werden und einen Proteingehalt im Bereich von 70 bis 90 Gew.-% aufweisen können.

Dem erfindungsgemäßen Verfahren kann vor dem proteinase-katalysierten Abbau eine Stufe vorgeschaltet werden, in der ein Teil der Einsatzstoffe bereits durch den Einsatz kohlenhydratspaltender Enzyme bei



vergleichsweise h. her. Temperaturen im Bereich von 80 bis 95°C abgebaut werden.

Nach Abschluß der enzymatischen Hydrolyse empfiehlt es sich, die Reaktionsmischung durch Zugabe von Mineralsäure auf einen sauren pH-Wert beispielsweise im Bereich von 2 bis 5 einzustellen.

Wird der Aufschluß in Gegenwart von Calciumoxid bzw. Calciumhydroxid als Base durchgeführt, bilden sich lösliche Calciumpeptide, die vom ungelösten Calciumoxid oder Calciumhydroxid durch Filtration abgetrennt werden müssen. Werden die Alkali-peptide gewünscht, empfiehlt es sich, die Calciumpeptide mit Soda- oder Pottaschelösung zu behandeln und das schwerlösliche Calciumcarbonat anschließend abzutrennen. Es ist ebenfalls möglich, das Calcium in Form von Calciumsulfat oder Calciumoxalat zu fällen. Die Abtrennung der schwerlöslichen Salze erfolgt vorzugsweise in Gegenwart von Filterhilfsmitteln mit den üblichen Trennverfahren für Fest/Flüssig-Trennungen wie Filtration, Separation und dergleichen.

Es werden wäßrige Reisproteinhydrolysatlösungen erhalten, die nach Bedarf beispielsweise unter Einsatz von Fallstromverdampfern aufkonzentriert werden können. Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältlichen Hydrolysate weisen ein mittleres Molekulargewicht im Bereich von 100 bis 30.000, vorzugsweise 100 bis 10.000 und insbesondere 2000 bis 5000 auf sowie einen Feststoffgehalt von etwa 5 bis 50 Gew.-%.

Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältlichen pflanzlichen Reisproteinhydrolysate zeichnen sich durch eine besonders vorteilhafte Farbqualität und Lagerstabilität aus. Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältlichen Reisproteinhydrolysate können in oberflächenaktiven Mitteln, vorzugsweise kosmetischen und/oder pharmazeutischen Formulierungen eingesetzt werden.

Die Reisproteinhydrolysate eignen sich ferner auch zur Herstellung von hellfarbigen, lagerstabilen Folgeprodukten wie beispielsweise N-acylierten, N-alkylierten, veresterten sowie N-acylierten bzw. N-alkylierten und zudem veresterten Derivaten. Vorzugsweise werden sie dazu in an sich bekannter Weise mit Fettsäuren bzw. Fettsäurechloriden mit 6 bis 22, insbesondere 12 bis 18 Kohlenstoffatomen kondensiert. Besonders bevorzugt ist die Verwendung der Reisproteinhydrolysate zur Herstellung von Laurinsäure- bzw. Kokosfettsäurekondensaten.

In einem 5-m³-Rührkessel wurden 3500 l Warmwasser vorgelegt und mit 4 kg Natriumsulfit und 10 kg Aktivkohle versetzt. Dieser Mischung wurden bei maximaler Rührerdrehzahl 450 kg Reisprotein zugesetzt und zu einer Suspension verrührt. Die Reaktionsmischung wurde auf 75°C erhitzt und bei dieser Temperatur 15 min gerührt. Danach wurde auf 45°C abgekühlt und der pH-Wert der Suspension mit Natronlauge auf 8,5 eingestellt. Durch Zugabe von 5 kg Proteinase wurde die Hydrolyse gestartet. Nach einer Rührzeit von 3 h, während der der pH-Wert auf 8,5 und der Sulfitgehalt oberhalb von 10 ppm gehalten wurde, wurde der pH-Wert durch Zugabe von Citronensäure auf 4,0 eingestellt. Danach wurde der Ansatz unter Zusatz von 15 kg Filterhilfsmittel (Perlite® P50) über eine Filterpresse filtriert. Anschließend wurden 10 kg Aktivkohle zum Filtrat gegeben und auf 80°C erhitzt. Die Mischung wurde 15 min bei dieser Temperatur gerührt und danach auf 50°C abgekühlt. Es wurden weitere 30 min bei 50°C gerührt und wiederum über eine Filterpresse filtriert. Das Filtrat wurde in einem Fallstromverdampfer bis zu einem Ge-

halt von ca. 35% B. konzentriert und durch Zugabe einer Mischung aus Nitroxyethan 1, Natriumbenzat, pHB-Methyl- und pHB-Ethylester konserviert. Nach einer Lagerung von 14 Tagen bei Raumtemperatur wurde nach Zugabe von weiteren 10 kg Aktivkohle und Filterhilfsmittel über eine Filterpresse filtriert. Das Reaktionsprodukt zeigte eine Lovibond-Farbzahl von 0,3 (rot) und 1,4 (gelb).

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Reisproteinhydrolysaten, bei dem man reisproteinhaltige Ausgangsstoffe in Gegenwart von Proteinasen bei einem pH-Wert im Bereich von 8 bis 10 hydrolysiert.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man die enzymatische Hydrolyse in Gegenwart von Aktivkohle durchführt.
3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß man die Reaktionsmischung nach der Hydrolyse auf einen pH-Wert im Bereich von 2 bis 5 einstellt.



- Leerseite -

